

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. Rolf Schröder

**DER „LONG-ACTING-THYROID-STIMULATOR“
UNTERSUCHUNG
ZUR PATHOGENESE DES MORBUS BASEDOW**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Sybille Kasper-Czygan geb. Czygan
geboren in Sorgenau/Ostpr.

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. Rolf Schröder

**DER „LONG-ACTING-THYROID-STIMULATOR“
UNTERSUCHUNG
ZUR PATHOGENESE DES MORBUS BASEDOW**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin



vorgelegt von Sybille Kasper-Czygan geb. Czygan
geboren in Sorgenau/Ostpr.

Referent: Professor Dr. med. Horst Schleusener

Korreferent: Prof. Dr. P. Freyschmidt



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 21. 9. 1976

INHALTSÜBERSICHT

Seite

I. EINLEITUNG	1
II. METHODIK	4
III. ERGEBNISSE	9
1. Nachweis und Häufigkeit des "long acting thyroid stimulator" im Serum von 64 Patienten mit unbehandeltem Morbus Basedow.	
2. Versuche zur weiteren Isolierung des "long acting thyroid stimulator" aus dem Gesamt-IoG mit der elektrofokussierenden Elektrophorese.	
IV. DISKUSSION	25
V. ZUSAMMENFASSUNG	36
LITERATUR	38

I. EINLEITUNG

Die Pathogenese der Hyperthyreose beim Morbus Basedow ist nicht geklärt. Nachdem radioimmunologische TSH-Bestimmungen und verbesserte histologische Untersuchungsmethoden gezeigt haben, daß bei allen Formen der Hyperthyreose die TSH-Aktivität in Hypophyse und Serum - bis auf verschwindend wenige Fälle (1) - vermindert ist, scheidet eine pathogenetische Rolle des thyreotropen Hormons aus dem Hypophysenvorderlappen aus (2,3,4). Da bei hyperthyreoten Patienten im Radio-Jod-Test Jod-Aufnahme und Jod-Umsatz auch nicht durch extrem hohe Schilddrüsenhormongaben gesenkt werden können (5) und die TSH-Sekretion vermindert ist, liegt eine vom Regelkreis unabhängige Steigerung des intrathyreoidalen Stoffwechsels vor. Dieser pathognomonische Prozeß muß entweder durch eine primäre Erkrankung der Schilddrüse oder durch einen extra-hypophysären Faktor bedingt sein. 1956 fanden Adams und Purves bei biologischen Versuchsmethoden eine schilddrüsen-stimulierende Substanz im Serum von Basedow-Patienten, die sie wegen ihrer verlängerten Aktivitätsdauer über 9 Stunden im Vergleich zu TSH "long acting thyroid stimulator" bezeichneten (6). LATS wurde als Immunglobulin G identifiziert (7). Auf der Suche nach seinem Entstehungsort konnte nachgewiesen werden, daß die Hypophyse als Ursprungsort entfällt (8). LATS unterscheidet sich vom TSH durch sein höheres Molekulargewicht (9), es wird lediglich durch ANTI-IgG nicht aber durch ANTI-TSH inaktiviert (10). Durch Alkohol-Perkolation nach Bates erfolgte keine Anreicherung (11). Primärer Angriffspunkt von LATS wie auch des TSH ist das in der Zellmembran lokalisierte Adenylcyclase-cAMP-System (12,13). Nach der Entdeckung eines thyreotropen Immunglobulins werden autoimmunologische Vorgänge bei der Pathogenese der Hyperthyreose beim Morbus Basedow diskutiert. Zahlreiche indirekte Befunde weisen darauf hin:

1. Familiär gehäuftes Auftreten von Morbus Basedow mit Hashimoto-Thyreoiditis und anderen Autoaggressionskrankheiten (14).

2. Hyperplasie von Thymus und Lymphgewebe bei diesen Patienten (15).
3. Häufiger Nachweis von organspezifischen Antikörpern bei Patienten mit Morbus Basedow (16).
4. In Basedow-Strumen sind in Stroma und Basalmembran der Schilddrüsenfollikel IgG, IgA und IgM nachweisbar (17).
5. Immunsuppressiva führten bei Morbus-Basedow-Patienten zu einer Normalisierung der Laborwerte und zu einer Besserung des klinischen Bildes (18).

Um aber den Morbus Basedow zu den Autoaggressionskrankheiten rechnen zu können, müßten die von Witebsky et al. (19) aufgestellten Bedingungen erfüllt sein:

1. LATS muß die Eigenschaft eines Antikörpers zeigen.
2. Nachweis eines spezifischen Antigens in der Schilddrüse.
3. Bildung von spezifischen Antikörpern bei der aktiven Immunisierung (die Synthese von LATS müßte zu entsprechenden histologischen Veränderungen in der Schilddrüse wie beim Morbus Basedow sowie zu einer Stimulierung von Schilddrüsen-Hormon-Synthese und Sekretion führen).
4. Nachweis einer biologischen Wirkung von LATS auch beim Menschen.

ad 1) Nachweis eines Antikörpers: LATS wird von antikörperbildenden Zellen synthetisiert (20) und weist die für Antikörper typische Heterogenität auf (21,22). Das IgG LATS reagiert auf bestimmte Verfahren wie andere Immunglobuline, deren Antikörpercharakter unbestritten ist (23).

ad 2) Die Untersuchung zur Identifizierung des hypothetischen Antigens ergaben widersprüchliche Angaben (24,25). Daß LATS ein Schilddrüsenautoantikörper ist, wird nur durch indirekte Befunde unterstützt: LATS-aktives IgG wird nach Inkubation mit Schilddrüsenhomogenaten inaktiviert (26). Wie Beall und Solomon nachwiesen, wird LATS hierbei nicht durch proteolytische Enzyme inaktiviert (27). Ein weiterer Hinweis dafür, daß in der Schilddrüse ein zu LATS korrespondierendes Antigen

lokalisiert ist, wäre die Beobachtung, daß nach totaler Thyreoidektomie die LATS-Aktivität im Serum abfällt oder verschwindet (28).

ad 3) Die Immunisierung von Kaninchen mit Fraktionen von Schilddrüsenhomogenaten ergaben keine überzeugenden Ergebnisse über die Bildung von spezifischen Antikörpern und den geforderten histologischen Veränderungen in der Schilddrüse (29,30).

ad 4) Arnaud et al. (31) berichten über eine Stimulierung der Schilddrüsenhormonsekretion beim Menschen nach Infusion von LATS-aktivem Serum. In vitro-Experimente zeigten eine Erhöhung der Adenylcyclase-Aktivität der menschlichen Schilddrüse durch LATS-aktives Immunglobulin (13).

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich mit folgenden Fragen:

- I. Häufigkeit des LATS-Nachweises bei Patienten mit unbehandeltem Morbus Basedow.
- II. Untersuchungen zur Heterogenität des Antikörpers LATS.

II. METHODIK

1. Reagenzien und Geräte

Ammoniumsulfat Merck 1112

Barbital Merck 7478

Agarose reinst Serva 11397

Na-carbonat wasserfrei Merck 6392

0,1 n NaOH Titrisol Merck 9959

Kupfersulfat $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ Merck 2790

Natriumtartrat Merck 6664

Folin-ciocalteus Phenolreagenz Merck 9001

DEAR-Sephadex A 50 Pharmacia Uppsala

Kaliumdihydrogenphosphat Merck 4873

Di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat Merck 6580

Saccharose reinst Merck 7653

Natriumhydroxid gereinigt Merck 6462

Ampholine-carrier-Ampholytes pH 6-8 LKB 8154

Ampholine-carrier-Ampholytes pH 8-10 LKB 8156

Magnetomix Colora

Whirlmix Cenco instrumenten Breda-Netherland

Spectrometer Beckmann DK-2A

Netzgerät und Elektrophoresekammer Boskamp

Ampholinesäule LKB 8102

Gradientenmischer LKB 8122

Fraction collector LKB

Uvicord LKB

2. Ammoniumsulfatfällung (7,32)

Das Untersuchungsmaterial zum LATS-Nachweis wurde aus dem Serum von 64 Patienten mit unbehandeltem Morbus Basedow gewonnen.

Serum wurde mit 4 M Ammoniumsulfatlösung auf eine Konzentration von 1,6 M eingestellt. Das erhaltene Sediment wurde abzentrifugiert und zur Verwendung im McKenzie-Versuch in physiologischer NaCl-Lösung gelöst. 0,5 ml dieser Lösung wurden pro Tier injiziert. Die jeweilige Eiweißkonzentration der Lösung wurde nach der Methode von Lowry (37) bestimmt und ist in Tabelle 2 angegeben.

3. DEAE-Sephadex A 50 Säulenchromatographie zur Isolierung von "reinem" bzw. "crudem" IgG aus dem Ammoniumsulfatpräzipitat (7).

Ammoniumsulfatpräzipitat (2 - 2,5 g) wurde auf eine DEAE-Sephadex A 50 Säule (dimension 2,5 x 30 cm) aufgetragen. Die Eiweißfraktionen wurden zunächst mit einem 0,025 M Phosphat-Puffer (pH 6,4) eluiert. Die auf der Säule verbliebenen Proteine wurden fraktioniert mit 0,5 M NaCl im genannten Puffer eluiert. Das eluierte Material bestand aus reinem IgG; das auf der Säule retardierte Material enthielt noch LATS-aktive IgG-Moleküle (s. Tab. 3). Ein weiterer Verlust von LATS-Aktivität trat auf, wenn Ammoniumsulfatpräzipitat vor der Chromatographie gegen den genannten Puffer dialysiert wurden und u. a. LATS-aktive Gamma-G-Globuline ausfielen (s. Tab. 3).

Um den Verlust zu vermeiden, wurde zur Isolierung von "crudem" Immunglobulin das aufgetragene Ammoniumsulfatpräzipitat mit einem 0,066 M Phosphatpuffer (pH 7,8) eluiert. Die eluierte IgG-Fraktion (Eluat 1) enthielt noch IgA und Transferrin (s. Abb. 2), die retardierte Fraktion (Eluat 2) enthielt noch Spuren von IgG (Abb. 2), das jedoch LATS-negativ war (s. Tab. 4).

4. Elektrofokussierende Elektrophorese

Mit dieser von Svensson/Vesterberg (33,34) entwickelten Methode ist eine Trennung von Eiweißmolekülen nach ihrem isoelektrischen Punkt möglich. In einer Elektrophoresesäule wird mit niedermolekularen Trägerampholyten (Molekulargewicht 1.000) in einem vorgegebenen Bereich ein pH-Gradient gebildet, an dem sich die zu trennende Proteine entsprechend ihrer isoelektrischen Punkte formieren. Sie wandern bis zum Punkt ihrer elektrischen Neutralität und konzentrieren sich in diesem pH-Bereich. Die Trägerampholyte besitzen starke Pufferkapazität, so daß der pH-Gradient durch die Proteine nicht verändert werden kann. Um die Ampholine zu stabilisieren und vor Wärmekonvektion zu schützen, wird durch Sucrose ein linearer Dichtegradient angelegt. Nach erfolgter Fraktionierung lassen sich die Ampholine wegen ihres kleinen Molekulargewichts leicht durch Dialyse von den Proteinen trennen.

Für die Auftrennung von je 100 - 150 mg Gesamt-IgG wurden Ampholine-Lösungen mit einem pH-Bereich von 6,0 - 8,0 und 8,0 - 10,0 im Verhältnis 1:1 gemischt und in eine Elektrophoresesäule von 440 ml Gesamtvolumen eingegeben. Zuvor wurde der Anodenpuffer (38,5 g Sucrose in 70 ml 1%iger Phosphorsäure) aufgetragen, danach ein Sucrosegradient aufgebaut, indem eine schwere Lösung (100 g Sucrose in 210 ml 3%iger Ampholine) und eine leichte Lösung (100 - 150 mg IgG in 210 ml 1%iger Ampholine) vor dem Einfüllen in die Säule durch einen Gradientenmischer gemischt wurden. Mit dem Kathodenpuffer (40 ml 1%ig Na-hydroxid) wurde die Säulenfüllung abgeschlossen. Die angelegte Spannung betrug 400 - 600 Volt, wobei eine Leistung von 6 Watt nicht überschritten wurde. Die Temperatur in der Säule wurde konstant bei 4° gehalten. Nach dem elektrophoretischen Lauf von 70 Stunden wurde die Säule an einen Fraktionssammler angeschlossen und mit einem konstanten Ausflußvolumen von 100 ml/h geleert. Extinktion und pH des Eluats wurden gleichzeitig durch UV-Absorptions-Meter (280 nm) bzw. pH-Meter gemessen.

Das in 5 ml Portionen aufgefangene Eluat wurde in 9 Fraktionen geteilt, von denen jede einen pH-Bereich von 0,5 repräsentierte. Nach Dialyse gegen 3 %iger NaCl (24 h bei 4⁰) und gegen 20 mMol NH₄CO₃ (48 h bei 4⁰) wurden die Fraktionen eingefroren und anschließend lyophilisiert. Um im Versuch mindestens 3 - 4 mg Eiweiß pro Tier für jede Fraktion einsetzen zu können, mußten vom gleichen Patienten 2 - 3 mal 100 mg IgG aufgetrennt werden. Die sich entsprechenden Fraktionen wurden dann mit etwa 10 ml physiologischer NaCl gelöst, zusammengegeben und durch Ultrafiltration wieder eingeengt.

5. McKenzie bio-assay

a) Der long acting thyroid stimulator wurde mit der von McKenzie/Williamson 1965 angegebenen Modifikation ihrer Methode nachgewiesen (35).

Der Versuch beruht auf der Stimulation der Schilddrüsenhormonsekretion durch Injektion von TSH oder LATS bei Mäusen. Vor Applikation dieser Substanzen wird die endogene TSH-Sekretion durch regelmäßig hinzugefügtes Thyroxin geblockt, so daß vorher verabreichtes 125 J in der Schilddrüsen angereichert wird und nicht als Hormonform abgegeben werden kann. Nach Injektion der schilddrüsenstimulierenden Stoffe kommt es im Serum der Tiere zu einem dosisabhängigen Anstieg des Hormonspiegels. Da vier Tage nach Verabreichung des 125 J alles anorganische 125 J durch die Niere ausgeschieden ist, kann die 125 J gleich der PB-125 J-Aktivität gesetzt werden.

Je 4 - 5 Mäuse vom Inzuchtstamm "N.M.R.I." (Naval Medical Research Institute) wurden 10 Tage bei konstanten Raumtemperatur- und Lichtverhältnissen mit einer Standardkost (Altromin GmbH) jodarm ernährt. Am 11. Tag wurden jeder Maus 15 µC trägerfreies 125 J in 0,2 ml physiologischer NaCl intraperitoneal und 10 µg Na-L-Thyroxin subcutan injiziert. Das Natrium-L-Thyroxin wurde hierzu in einer geringen Menge von ca. 0,1 NaOH in 70 %igem Alkohol gelöst und anschließend auf das berechnete Volumen mit physiologischer NaCl aufgefüllt (0,1 ml/Tier). Die T₄-Injektion wurde 4 Tage lang wiederholt. Am 15. Tag wurde dann der Versuch durchgeführt:

1. Entnahme von 0,1 ml Blut mit einer Konstriktionspipette durch retroorbitale Punktion = sogenannter O-Wert.

2. Unmittelbar danach Injektion von 0,5 ml einer Eiweißlösung in die Schwanzvene (Test- oder Kontrollsubstanz).

Die Kontrolltiere erhielten je nach Aufarbeitung des LATS-verdächtigen Materials Gamma-Globulin oder reines IgG von Normalpersonen. Einer zweiten Kontrollgruppe wurde ein LATS-Standard injiziert, um die Ansprechbarkeit der Tiere zu prüfen.

3. Wiederholung der Blutentnahme 9 Stunden post injektionem.

Das Blut wurde jeweils in ein Plastikröhrchen mit 0,5 ml aqua dest. und Cialitzusatz 1:10.000 gegeben. Die Radioaktivität der Blutproben wurden jeweils 10 Minuten in einem Packard-y-Counter-Probenwechsler gemessen. Bei einem Background von 50 - 80 Impulsen/min betrug nach einer 10minütigen Messung bei den Proben mit geringster Aktivität die durch die Messung bedingte relative Standardabweichung 3 %.

- b) Die statistische Auswertung erfolgte in Anlehnung an die von Guillemin et al. (38) angegebenen Methode zur Analyse von biologischen Versuchen für TSH und LH:

1. Umformung der Impulse/10 min in ihre logarithmischen Werte
2. Covarianzanalyse-"adjusted data" (BMD-Programm 04 y) (39).
3. F-Test zur Berechnung von P.
4. Antilogarithmen-adjusted counts/10 min.

Zur Auswertung wurden folgende Werte berücksichtigt:

1. 0-Wert (der vor Injektion der Testsubstanz erhalten wurde)
2. 9-Stunden-Wert nach Injektion der Testsubstanz.
3. 9-Stunden-Wert nach Injektion einer Vergleichssubstanz.

Die Anwesenheit von LATS in der Testsubstanz wurde als gegeben angenommen, wenn der 9-Stunden Wert der experimentellen Gruppe signifikant ($p < 0,05$) über dem einer Kontrollgruppe lag.

6. Proteinbestimmung

Sie wurde nach der Methode von Lowry mit dem Folin-Reagenz durchgeführt (37).

7. Immunelektrophorese

Es wurde die qualitative Immunelektrophorese in Agargel in Anlehnung an die Mikromethode von Scheidegger durchgeführt (36).

III. ERGEBNISSE

1. Nachweis und Häufigkeit des "long acting thyroid stimulator" im Serum von 64 Patienten mit unbehandeltem Morbus Basedow.

Bei den Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen wurde LATS im Serum von Patienten mit Morbus Basedow in wechselnder Häufigkeit gefunden. Die Angaben schwanken zwischen 35 % - 80 % (40,41). Wegen der erheblichen Streubreite, die möglicherweise auf unterschiedliche Untersuchungstechniken zurückzuführen ist, sahen wir uns veranlaßt, die Häufigkeit des LATS-Vorkommens in einem eigenen Kollektiv von Morbus Basedow-Patienten zu überprüfen.

Im Routine-LATS-Versuch wurde den Tieren 20 - 40 mg Ammuniumsulfatpräzipitat aus dem Serum von Morbus Basedow-Patienten in 0,5 ml Lösung injiziert. Das Ammuniumsulfatpräzipitat enthielt das gesamte IgG (s. Abb. 1).

Insgesamt wurden 64 Patienten mit Morbus Basedow untersucht, wobei der Morbus Basedow mit und ohne Ophthalmopathie bzw. mit und ohne prätibiales Myxödem einherging.

In Tabelle 2 sind die Befunde zusammengefaßt.

In der Literatur wird berichtet (42,43,44), daß LATS häufiger vorkommt, wenn der Morbus Basedow mit Komplikationen wie Ophthalmopathie und/oder prätibiales Myxödem einhergeht. Aus Tabelle 2 wurden deshalb entsprechend dieser Komplikationen Gruppen zusammengestellt. Tabelle 1 zeigt, daß von den 64 Patienten bei 16 Patienten LATS nachgewiesen werden konnte (25 %). Sie zeigt ferner, daß von 31 Patienten mit Ophthalmopathie bei 11 LATS nachgewiesen wurde (35 %), 31 Patienten ohne Ophthalmopathie 3 positiv waren (10 %) und das bei beiden Patienten mit prätibialem Myxödem LATS-Aktivität nachgewiesen wurde.

Tabelle 1: Häufigkeit des LATS-Nachweises bei 64 Patienten mit Morbus Basedow.

<u>Gruppe</u>	<u>Anzahl</u>	<u>LATS-pos.</u>	<u>LATS-neg.</u>	<u>%</u>
Basedow ohn Ophthalmopathie	31	3	28	10
Basedow mit Ophthalmopathie	31	11	20	35
Basedow mit <u>prätibialem Mysödem</u>	<u>2</u>	<u>2</u>	<u>0</u>	<u>100</u>
Gesamt	64	16	48	25

Tabelle 2: Nachweis von LATS bei 64 Patienten mit gesichertem Morbus Basedow. Es ist angegeben, mit welchen zusätzlichen Symptomen die Hyperthyreose einherging, wieviel mg ASP/Tier eingesetzt wurden, die adjusted counts per 10 min nach 9 Stunden von Experimentell- und Kontrollgruppe und die die Signifikanz P.

NAME	zusätzl. Symptome	Tierversuch mg/ASP/Tier	ad.counts/10 n. 9 Exp./Kontr.	P
1.Ap.S.	-	20	998/952	> 0,05
2.Ar.M.	Exophth.	32	4653/4968	> 0,05
3.Ba.I.	Exophth. prät.Myx.	23	25460/4472	< 0,01
4.Bo.A.	-	26	8788/7561	> 0,2
5.Br.G.	-	23	5359/5913	N.S.
6.Br.E.	-	26	1221/1262	N.S.
7.Bä.E.	Exophth.	37	18797/6979	< 0,05>0,01
8.Ch.E.	Exophth.	38	6677/6831	> 0,2
9.Do.H.	-	17	3119/2936	> 0,2
10.Fr.C.	-	20	3930/2188	< 0,01>0,005
11.Fr.G.	-	18	5451/7236	N.S.
12.Ge.M.	-	20	1326/1513	N.S.
13.Ha.G.	end.Ophth. pathie	16	1846/1218	< 0,05
14.Ho.G.	-	29	6730/6820	N.S.
15.Ha.I.	end.Ophth. pathie	21	868/988	N.S.
16.He.B.	end.Ophth. pathie	24	3687/2855	< 0,05>0,01
17.He.O.	end.Ophth. pathie	20	3937/1371	< 0,01
18.He.I.	-	19	1415/1333	N.S.
19.Ho.A.	-	20	1535/1216	N.S.
20.Ja.H.	Exophth.	20	4955/4326	> 0,05
21.Ka.C.	end.Ophth. pathie	28	2220/1874	< 0,05>0,01
22.Ka.A.	Exophth.	30	6017/5738	> 0,05

NAME	zusätzl. Symptome	Tierversuch mg/APp/Tier	ad.counts/10 n.9 Exp./Kontr.	P
23.Ka.E.	-	25	6017/5738	> 0,1 < 0,
24.Ko.R.	-	20	4228/3773	> 0,05
25.Ko.E.	-	26	2951/2716	> 0,2
26.Kü.H.	-	15	3699/2709	< 0,005 > 0,001
27.Kr.A.	end.Ophth. pathie	25	4848/5687	N.S.
28.Kl.E.	end.Ophth. pathie	29	2537/2335	N.S.
29.Ku.L.	-	18	2583/2731	N.S.
30.Li.L.	end.Ophth. pathie	22	6582/5530	> 0,05
31.Lo.L.	leichte Ophth.path.	22	3538/2546	> 0,05
32.Lü.I.	-	22	2620/2775	N.S.
33.La.D.	Ophth.path.	14	2275/1722	> 0,05
34.Me.L.	Ophth.path.	27	864/1036	N.S.
35.Ma.W.	Ophth.path.	28	6800/6380	> 0,2
36.Mü.H.	-	21	1427/1769	N.S.
37.Mu.W.	-	19	20020/8867	< 0,01
38.Me.S.	Ophth.path.	43	2151/1442	< 0,05
39.Me.H.	Ophth.path.	28	1599/1311	< 0,05
40.Mü.E.	end.Ophth. pathie	16	1305/1267	N.S.
41.Ne.D.	-	21	7221/6577	> 0,2
42.Pa.C.	Ophth.path.	15	3634/3067	> 0,05
43.Ra.C.	Ophth.path.	27	3415/3862	N.S.
44.Re.W.	-	31	721/971	N.S.
45.Ro.G.	end.Ophth. pathie	24	3746/2101	> 0,05
46.Pl.S.	-	13	4565/4828	N.S.
47.Ro.H.	-	23	1901/1885	> 0,05
48.Re.M.	-	21	2360/2865	N.S.
49.Ri.U.	-	23	1355/1546	N.S.
50.Ra.M.	end.Ophth. pathie	30	12850/6476	< 0,02 > 0,01

NAME	zusätzl. Symptome	Tierversuch mgASP/Tier	adcounts/10 n.9 Exp./Kontr.	P
51.Ro.B.	Ophth.pathie	20	32900/8316	< 0,05 > 0,01
52.Se.R.	Ophth.pathie	20	5679/6077	N.S.
53.Sk.H.	Ophth.pathie	20	7137/4785	> 0,05
54.So.H.	-	23	3905/3555	> 0,05
55.Sc.H.	-	18	2439/2975	N.S.
56.Sc.G.	-	16	6575/6893	N.S.
57.Sc.M.	Ophth.pathie	17	2764/2987	N.S.
58.Sc.F.	Ophth.pathie	21	48910/4342	< 0,01
59.Uc.E.	Ophth.pathie	19	4473/1410	< 0,05
60.Wa.E.	prätib.Myxöd.	14	8147/6305	< 0,02 > 0,01
61.Wa.P.	-	23	3090/2807	< 0,2 > 0,1
62.We.D.	-	22	1312/1439	N.S.
63.Wi.D.	-	20	2824/2210	> 0,05
64.Wi.H.	-	18	1279/1290	N.S.

Tabelle 3: Aktivitätsverlust bei der Herstellung von reinem IgG durch DEAE-Sephadex- Chromatographie einer aktiven Gamma-Globulinlösung. Das Material wurde in 0,025 M Phosphatpuffer pH 6,4 eluiert.

Testmaterial	mg EW/Tier	LATS-Aktivität (adusted counts)	P
Normal-IgG	16	3408	
Bei der Dialyse gegen 0,025 M PP/pH 6,4 aus- gefallenes Material (Euglobuline)	23	34820	< 0,01
Auf der Säule retard. Material	32	15780	< 0,01
Eluiertes Material (= reines IgG)	1,5	9588	< 0,01

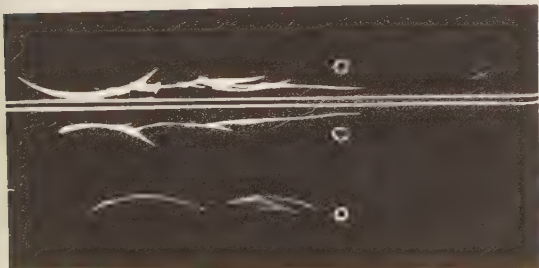
Abbildung 1:

Immunelektrophorese von Nativserum = A
Ammoniumsulfatpräzipitat des Serums = B
Überstand nach Ammoniumsulfatfällung= C

Die Testung erfolgte gegen Antihumanserum
vom Kaninchen.

Anode

Kathode



A

B

C

2. Versuche zur weiteren Isolierung des "long acting thyroid stimulator" aus dem Gesamt-IgG mit der elektrofokussierenden Elektrophorese.

Als Ausgangsmaterial zur Durchführung der Untersuchung mit der elektrofokussierenden Elektrophorese wurde "crudes" IgG aufgetragen, da bei der Isolierung von reinem IgG LATS-Verluste aufgetreten waren (Tabelle 3).

Crudes IgG von 3 Patienten mit unbehandeltem Morbus Basedow wurde weiter auf der elektrofokussierenden Elektrophorese aufgetrennt.

Abbildung 3 zeigt das Elutionsdiagramm und die Verteilung von LATS in den durch ihre isoelektrischen Punkte charakterisierten IgG-Subfraktionen. Die Verteilung von LATS in den IgG-Unterklassen variierte geringfügig von Patient zu Patient.

Tabelle 4 zeigt jedoch, daß die Aktivität mindestens auf 2 Fraktionen mit einem isoelektrischen Punkt über 8,0 verteilt ist. In einem Fall (s. Tab. 4) war die spezifische Aktivität der Fraktion mit dem isoelektrischen Punkt 9,0 - 9,5 signifikant höher ($P < 0,01$) als die des Gesamt-IgG. Abbildung 4 zeigt die Wanderungsgeschwindigkeit der in den Einzelfractionen befindlichen Eiweißkörper in der Immunelektrophorese:

Die LATS-aktiven Fraktionen bestanden aus reinem IgG mit elektrophoretisch langsamer Beweglichkeit. Die Fraktion I.P. 6 enthält neben IgG noch IgA und Transferrin, die Fraktion I.P. 6,0 - 6,5 neben IgG noch IgA.

In einem weiteren Versuch wurde crudes IgG von 2 unbehandelten Morbus Basedow-Patienten mit LATS-negativem Gesamt-IgG

mittels elektrofokussierender Elektrophorese aufgetrennt, um evtl. vorhandene LATS-Inhibitoren vom spezifischen Molekül abzutrennen.

Abbildung 6 zeigt das Elutionsdiagramm. Wie aus Tabelle 5 hervorgeht, konnte in keiner der IgG-Subfraktionen signifikante LATS-Aktivität nachgewiesen werden.

Die Versuche ergaben zwar eine ungenügende Isolierung von LATS aus dem Gesamt-IgG, zeigten jedoch eine für Antikörper typische heterogene Verteilung im elektrophoretischen Feld.

Abbildung 2: Immunelektrophorese von Eluat 1 = a, das über DEAE-Sephadex A 50 mit einem 0,066 M Phosphatpuffer (pH 7,8) eluiert wurde und Eluat 2 = b, das der retardierten Fraktion entspricht. Eluat 1 enthält noch IgA und Transferrin, Eluat 2 noch Spuren von IgG. Die Testung erfolgte gegen Antihumanserum vom Kaninchen.

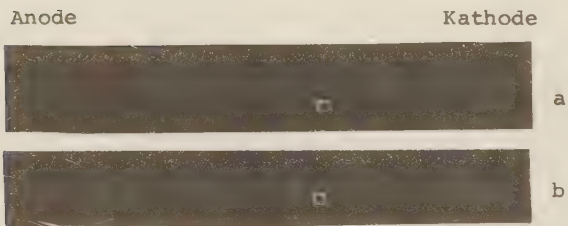


Abbildung 3: Verteilung von LATS innerhalb der IgG-Subfraktionen von 3 Patienten mit Morbus Basedow = a, b + c. Die IgG-Fraktion wurde mit der elektrofokussierenden Elektrophorese in einem pH-Bereich von 6 - 10 aufgetrennt.

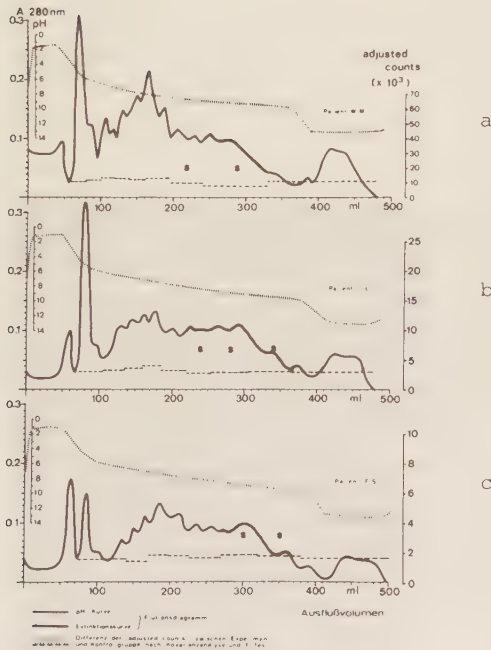


Tabelle 4: Nachweis von LATS in der IgG-Fraktion, der retardierten Fraktion und den IgG-Subfraktionen bei 3 Patienten mit Morbus Basedow. Die Auswertung erfolgte durch paarweisen Vergleich mit der Kontrollgruppe mit den jeweiligen Experimentengruppen. Die Werte sind im adjusted counts/10 min ausgedrückt.

Material Experimentengruppen	mg Prot	Patient W.M.			Patient U.L.			Patient F.S.		
		Experimentengruppen	Kontrollgruppe	P	Experimentengruppen	Kontrollgruppe	P	Experimentengruppen	Kontrollgruppe	P
retard. Fraktion	20	7 273	11 809	ns	3 955	4 033	ns	3 514	1 861	ns
crude IgG	5	23 475	9 773	<0,05	10 023	2 768	<0,05	4 104	1 647	<0,05
1 p _H <4	5	8 383	10 500	ns	3 252	2 791	ns	1 581	1 434	ns
2 p _H 4 - 6	5	13 000	10 826	ns	3 694	3 096	ns	1 659	1 577	ns
3 p _H 6 - 6,5	5	8 680	12 156	ns	4 101	3 335	ns	1 593	1 587	ns
4 p _H 6,5 - 7	5	10 689	13 357	ns	4 113	3 672	ns	1 573	1 355	ns
5 p _H 7 - 7,5	5	12 100	12 794	ns	3 809	4 030	ns	1 652	1 866	ns
6 p _H 7,5 - 8	5	15 403	12 117	ns	6 748	3 157	ns	2 664	1 873	ns
7 p _H 8 - 8,5	5	12 993	13 295	ns	15 343	2 781	<0,01	2 545	1 586	ns
8 p _H 8,5 - 9	5	28 732	9 553	<0,01	12 945	2 737	<0,01	4 995	1 844	<0,05
9 p _H 9 - 9,5	5	72 360	6 883	<0,01	26 546	2 856	<0,01	5 497	1 747	<0,01
10 p _H >9,5	5	9 285	11 190	ns	3 918	2 824	ns	1 644	1 536	ns

100 µg = 5 von Normalpersonen 5mg Protein/Tier i.v. ; ns = nicht signifikant

Abbildung 4: Immunelektrophorese der IgG-Fractionen nach Auftrennung des Gesamt-IgG in der elektrofokussierenden Elektrophorese (= a - i).

a = Fraktion mit IP 6; b = IP 6,0 - 6,5;
c = IP 6,5 - 7,0; d = IP 7,0 - 7,5; e = IP 7,5 - 8,0;
f = IP 8,0 - 8,5; g = IP 8,5 - 9,0; h = IP 9,0 - 9,5;
i = 9,5.

Die Fraktionen wurden gegen Anti-Gesamt-Serum vom Kaninchen getestet.

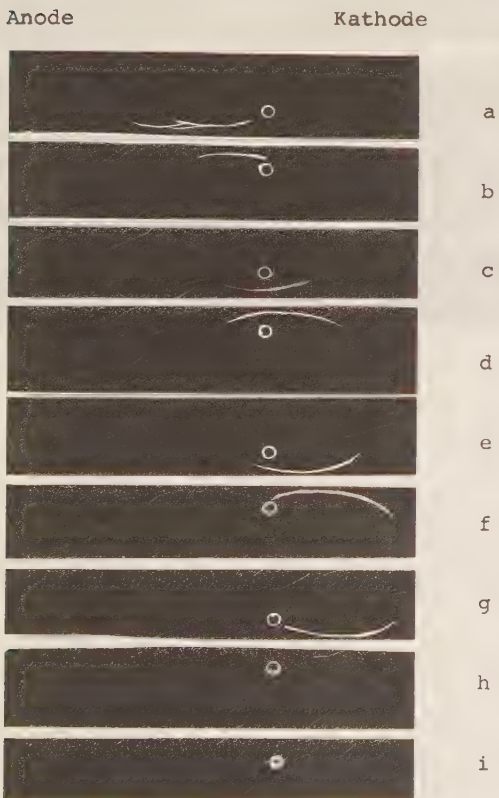


Abbildung 5: Immunelektrophorese von Fraktionen mit IP 6 gegen Anti-IgG (a); gegen Anti-IgA (b); gegen Anti-Transferrin (c) und Fraktion mit IP 6,0 - 6,5 gegen Anti-IgG (d) gegen Anti-IgA (e).

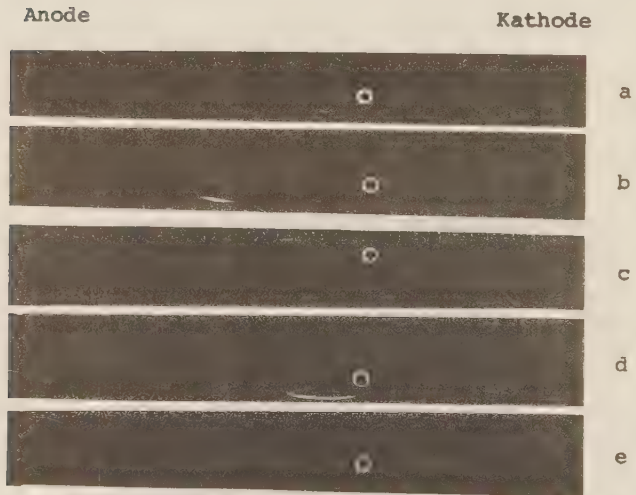


Abbildung 6: Elutionsdiagramm der jeweiligen LATS-negativen IgG-Fractionen von zwei unbehandelten Morbus Basedow-Patienten. Der Verlauf ähnelt dem des LATS-positiven, in keiner IgG-Subfraktion konnte jedoch signifikante LATS-Aktivität nachgewiesen werden.

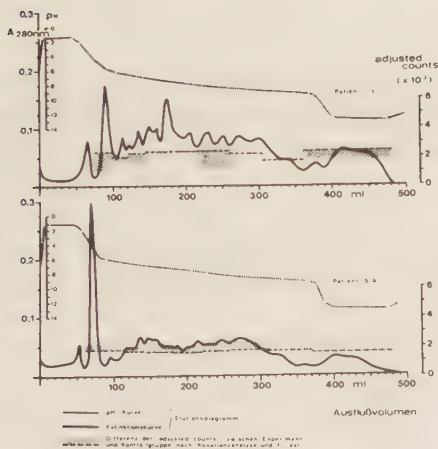


Tabelle 5: Testergebnisse der retardierten Fraktion und der IgG-Subfraktionen einer LATS-freien IgG-Fraktion von 2 Patienten mit Morbus Basedow. Die Auswertung erfolgte durch paarweisen Vergleich der Kontrollgruppe mit den jeweiligen Experimentgruppen. Die Werte sind in adjusted counts/10 min angegeben.

Material Experimentgruppen	mg Prot.	Patient L.L.			Patient S.A.		
		Experiment- gruppen	Kontroll- gruppe*	P	Experiment- gruppen	Kontroll- gruppe*	P
retard. Fraktion	20	2 839	2 111	ns	2 675	1 731	ns
crude IgG	5	2 207	2 066	ns	2 425	1 632	ns
1 pH: < 4	5	1 155	2 613	ns	—	—	—
2 pH: 4 - 6	5	1 050	2 427	ns	2 195	1 729	ns
3 pH: 6 - 6,5	5	1 770	2 035	ns			
4 pH: 6,5 - 7	5	1 385	2 307	ns	2 061	1 597	ns
5 pH: 7 - 7,5	5	2 159	2 423	ns	2 266	1 617	ns
6 pH: 7,5 - 8	5	2 429	2 381	ns	1 991	1 593	ns
7 pH: 8 - 8,5	5	1 111	2 515	ns	2 150	1 642	ns
8 pH: 8,5 - 9	5	2 231	2 199	ns	2 357	1 684	ns
9 pH: 9 - 9,5	5	1 837	1 708	ns	2 170	1 698	ns
10 pH: > 9,5	5	1 672	2 426	ns	1 934	1 542	ns

* crude IgG von Normalpersonen 5mg Protein/Tier i.v

ns = nicht signifikant

DISKUSSION

Beste Nachweismethode für thyreotrope Immunglobuline im Serum von Morbus Basedow-Patienten ist der McKenzie-Versuch (35). Der konventionelle Name für die Immunglobuline ist "long acting thyroid stimulator" (6). Auf den Nachweis anderer spezifischer Immunglobuline wird später ausführlich eingegangen. Zahlreiche Hinweise deuten darauf hin, daß dieses Immunglobulin über das Adenylcyclase cAMP-System die menschliche und tierische Schilddrüse stimulieren (45).

Ein wichtiger indirekter Hinweis für die pathogenetische Rolle thyreotroper Immunglobuline ist der Nachweis von LATS oder LATS-Protector im Serum hyperthyreosekranker Mütter und deren Neugeborene (46,47,48). In Abhängigkeit von der Halbwertszeit des diaplazentar in den fötalen Kreislauf gelangten Immunglobulins kam es bei den Kindern zu einer spontanen Heilung der Hyperthyreose. Ein weiterer Hinweis ist der nachgewiesene stimulierende Effekt von LATS auf die Schilddrüse von Säugetieren (49,50). Auch beim Menschen konnte eine Stimulation der Schilddrüsenhormonsekretion durch Infusion von LATS-aktiven bzw. LATS-Protector-aktiven Seren nachgewiesen werden (31). Daß LATS bisher nur in Seren von Morbus Basedow-Patienten oder ihren Verwandten nachgewiesen wurde (51), wäre ein weiterer indirekter Beweis für die Bedeutung thyreotroper Immunglobuline bei der Entstehung des Morbus Basedow.

Trotz dieser positiven Untersuchungsergebnisse gibt es zwei Einwände gegen die pathogenetische Rolle von spezifischen Immunglobulinen:

1. Geringe Nachweisrate:

Unsere Ergebnisse über die Häufigkeit von LATS bei Morbus Basedow-Patienten stimmen mit denen anderer Arbeitsgruppen insofern überein, daß nur bei einem Teil der Patienten der LATS-Nachweis gelang und Patienten mit einer

gleichzeitig bestehenden Ophthalmopathie häufiger LATS-positiv waren als Patienten ohne Ophthalmopathie (siehe Tabelle 1).

In dieser Arbeit wurden etwa 25 % LATS-positive Seren gefunden. Die folgende Tabelle zeigt die Häufigkeit des LATS-Nachweises, wie sie von anderen Autoren angegeben wurde.

Tabelle 6: Häufigkeit des LATS-Nachweises, wie sie von verschiedenen Autoren angegeben wurde. Die Einteilung erfolgte im wesentlichen in zwei Gruppen: Hyperthyreose mit und ohne Ophthalmopathie.

LITERATUR	DIAGNOSE	ANZAHL	LATS pos.	% LATS pos.
Pinchera et al. (49)	M.BASEDOW mit Ophthalmoph. ohne Ophthalmoph. pr.euthyr.Ophth. tox. Adenom	21 22 7 2	14 3 1 0	67 % 14 % 14 % 0 %
Der Kinderen (52)	M.BASEDOW mit Ophthalmoph. ohne Ophthalmoph. euthyr.Ophth.	28 15 4	14 3 1	50 % 20 % 25 %
McKenzie (53) (54)	M.BASEDOW mit Ophthalmoph. ohne Ophthalmoph. tox.Adenom tox.multinod. Struma	9 24 19 1	8 19 0 0	89 % 79 % 0 % 0 %
Noguchi et al. (55)	M.BASEDOW mit Ophth. und ohne	95	54	68 %
Ziemke et al. (56)	M.BASEDOW mit Ophthalmopath. ohne Ophthalmopath.	4 57	4 21	100 % 34 %
Pimstone et a. (57) (58)	M.BASEDOW mit Ophthalmopath. ohne Ophthalmopath. euthyr.Ophthalmopath.	13 2 5	6 2 5	46 % 100 % 100 %
Horster et al. (59)	M.BASEDOW mit Ophthalmopath. ohne Ophthalmopath.	47 30	21 11	45 % 33 %
Carneiro et al. (60)	M.BASEDOW (keine Angaben über Häufigkeit mit und ohne Ophthalmopath.)	100	55	55 %

Bonnyns et al. (44)	M.BASEDOW			
	mit Ophthalmopath.	6	6	100 %
	ohne Ophthalmopath.	22	2	8 %
Kriss et al. (42)	M.Basedow			
	mit Ophthalmopath.	9	7	78 %
	ohne Ophthalmopath.	29	3	10 %
Burke (40)	M.BASEDOW			
	ohne Angaben	58	22	38 %
Lamberg et al. (41)	M.BASEDOW			
	mit Ophthalmopath.	27	18	67 %
	ohne "	12	9	75 %
	tox.Adenom	6	2	33 %
	tox.multinod.			
	Struma	23	10	44 %
Kriss et al. (43)	prätibiales			
	Myxödem	21	19	91 %
Bennoit et al. (61)	prätibiales			
	Myxödem	8	8	100 %

Aus der Tabelle 6 geht hervor, daß bei durchschnittlich 60 - 80 % der Fälle der LATS-Nachweis gelang. Wir erklären diese Diskrepanz zu unseren eigenen Untersuchungsergebnissen durch die Anwendung verschiedener Kriterien bei der Deutung der Versuchsergebnisse:

Zuerst wären die verwendeten Kontrollsubstanzen zu nennen. Es hat sich gezeigt, daß bei Kontrolltieren, die statt der Serum-Proteine Kochsalz erhielten (49), die Radioaktivität im Serum nie einen signifikanten Anstieg zeigte, so daß man eine LATS-Reaktion schon dann annehmen konnte, wenn die Radioaktivität 9 Stunden post injektionem signifikant über dem Null- bzw. 2-Stunden-Wert lag (58). Schleusener und Schimmelpfennig (18) beobachteten nach Injektion von physiologischer Kochsalzlösung, Dextran oder Mäusealbumin, einen mittleren 8-Stunden-Wert von 93 %, nach Injektion von Normal-Serum als Kontrollsubstanz betrugen die 8-Stunden-Werte dagegen im Mittel 130 %. Der Kinderen (52) erhielt sogar einen mittleren 8-Stunden-Wert bis zu 20 % des Ausgangswertes. Dorrington-Munro (62) warnen davor, Werte unter 300 % des Ausgangswertes als positive Reaktion zu deuten. Da auch die Reaktion der Versuchstiere auf Kontrollsubstanzen bei sonst konstanten Bedingungen auch jahreszeitlich verschieden zu sein scheint (35) haben wir hier in Übereinstimmung mit Kriss und McKenzie (7,35) nicht mehr den Unterschied der Aktivität im Serum nach 2 und 9 Stunden in Bezug auf den Null-Stunden-Wert als Kriterium angesehen, sondern die Differenz in der Radio-Aktivität zwischen Experiment und Kontrollgruppe 9 Stunden post injektionem. Außerdem erhielten in dieser Untersuchung die Kontrolltiere als Kontrollsubstanzen stets das entsprechende Protein, nämlich Ammoniumsulfat-Präzipitat oder Gesamt-IgG aus Normal-Seren.

Ein weiterer wesentlicher Punkt wäre die statistische Auswertung der Daten. Die meisten Arbeitsgruppen (41,44,52,7,55) machen den prozentualen Anstieg der Radio-Aktivität im Blut der Versuchstiere 9 Stunden nach Injektion der Testsubstanz zum Ausgangspunkt für die Signifikanzberechnung, ohne die

Abhängigkeit des Endwertes vom Ausgangswert zu berücksichtigen. Um aber wenigstens einen Teil der biologischen Streuung zu korregieren, wurde in der vorliegenden Untersuchung nach der Empfehlung von Sakiz-Guillemain (34) und McKenzie-Williamson (35) vorgegangen:

Nach Umwandlung der Werte in Logarithmus 10 und Kovarianzanalyse wurde die Signifikanz berechnet.

Es wurde diskutiert, ob diese geringe Nachweisrate möglicherweise durch die Unempfindlichkeit des McKenzie-Versuchs bedingt sei. Wir hofften, mit Hilfe der elektrofokussierenden Elektrophorese evtl. bestehende LATS-Inhibitoren vor den spezifischen Immunglobulin-Molekülen abzutrennen, um Eiweißfraktionen mit höherer spezifischer Aktivität zu gewinnen, um auch bei LATS-negativen Morbus Basedow-Patienten im McKenzie-Versuch eine positive Reaktion nachzuweisen. Es gelang jedoch nicht, in irgendeiner Fraktion des aufgeteilten LATS-negativen IgG zweier Patienten mit unbehandelter Hyperthyreose thyreotrope Aktivität im McKenzie-Versuch nachzuweisen (s. Tabl. 5 und Abb. 6).

Mit dem Gedanken, durch IgG-Konzentration die Resultate über den LATS-Nachweis zu verbessern, beschäftigten sich auch andere Autoren. Carneiro et al. (32) berichten, daß ihnen der Aktivitätsnachweis in 7 von 10 LATS-negativen Morbus Basedow-Patienten gelang, wenn sie das vom Serum getrennte IgG in hohen Konzentrationen injizierten. Es wird jedoch darauf hingewiesen, daß dem Verfahren durch die hoch einzusetzenden Eiweißkonzentrationen Grenzen gesetzt sind. Sie injizierten 95 mg IgG in 0,5 ml/Tier und erreichten damit sowohl die Grenze der Löslichkeit des IgG als auch die der Verträglichkeit für die Maus. Außerdem muß der umgekehrte Effekt - das Negativwerden der vorher positiven unkonzentrierten Seren - berücksichtigt werden. Dies kann einmal durch Verschwinden der unspezifischen positiven Reaktion, durch LATS-Verlust bei ausgefallenen Euglobulinen oder durch IgG-Verlust beim Trennungsv erfahren geschehen (73).

Es ist wohl anzunehmen, daß der hohe Prozentsatz nicht nachzuweisender LATS-Aktivität nicht allein an der Unempfindlichkeit des McKenzie-Versuchs liegen kann.

Adam und Kennedy waren die ersten, die indirekte Beweise für das Vorliegen von thyreotropen Immunglobulinen erbrachten, die eine große Affinität zu menschlichen Schilddrüsenmembranen hatten (63, 64), jedoch nicht direkt im McKenzie-Versuch nachweisbar waren.

Da in ihren Versuchen dieses IgG die Neutralisation von LATS durch menschliche Schilddrüsenmembranen verhinderte, nannten sie es LATS-Protektor. Die Autoren fanden in 95 % ihrer Patienten LATS-Protektor-Aktivität (65). Ähnliche Ergebnisse gaben Kendall-Taylor et al. (66) an. Durch eine andere Versuchsmethode, dem Radio-Liganden-Rezeptor-Versuch, bei dem die Bindung von markiertem TSH durch schilddrüsenstimulierende Faktoren gehemmt wird, wurden direkte Beweise für das Vorliegen bestimmter Immunglobuline gefunden, die ausschließlich von menschlichen Schilddrüsenmembranen, nicht aber von Mäuse-Schilddrüsenmembranen gebunden werden (67,68). Mukthar et al. fanden bei Anwendung dieser Methode in 100 % der Fälle von unbehandelten Morbus Basedow-Patienten schilddrüsenpezifische Immunglobuline (69). Schleusener et al. konnten in 60 % der Fälle positive Ergebnisse nachweisen (68).

Trotz dieser Ergebnisse gibt es ein zweites wichtiges Argument gegen die pathogenetische Rolle von Morbus Basedow-spezifischen Immunglobulinen:

Ein positiver Suppressionstest bei Basedow-Patienten nach langfristiger thyreostatischer Therapie, in deren Seren im McKenzie-Versuch LATS-Aktivität gefunden wurde (70,71). Eine Erklärung hierfür konnten Untersuchungen von Schleusener et al. geben (72). Schleusener et al. verglichen die thyreotrope Aktivität der Immunglobuline von Morbus Basedow-Patienten im humanspezifischen Radio-Liganden-Rezeptor-Versuch und im McKenzie-Versuch. Die Ergebnisse sprechen dafür, daß zwar die meisten dieser thyreotropen Immunglobuline nach Bindung an die Rezeptoren das Adenylzyklase-System stimulieren, einige jedoch sich lediglich an den Rezeptor binden, ohne die Adenylzyklase aktivieren zu können. In einer dritten Gruppe von Patienten wurden Immunglobuline entdeckt, die zwar die Mäuse-Schilddrüse im McKenzie-Versuch, jedoch nicht die Schilddrüse von Menschen

stimulieren können. Umgekehrt konnte LATS bei einigen Patienten mit ausgeheilter Hyperthyreose im Radio-Liganden-Rezeptor-Versuch, aber nicht im McKenzie-Versuch nachgewiesen werden.

Die Untersuchungen von Schleusener lassen Zweifel zu, daß humorale Antikörper die alleinige pathogenetische Rolle beim Morbus Basedow spielen, da bei einigen Patienten mit unbehandelter Hyperthyreose LATS im McKenzie-Versuch jedoch nicht im Radio-Liganden-Rezeptor-Versuch nachgewiesen werden konnte. Der Nachweis unterschiedlicher thyreotroper Immunglobuline mit unterschiedlicher Affinität zur menschlichen Zellmembran spricht für ihre Heterogenität. Vermutlich sind alle diese spezifischen Immunglobuline jedoch Variationen eines Antikörpers gegen ein und dasselbe Antigen - den TSH-Rezeptor.

2. Untersuchungen über die Heterogenität vom long acting thyroid stimulator mit der elektrofokussierenden Elektrophorese.
Ein starker Hinweis für die Heterogenität der thyreotropen Immunglobuline sind unsere Untersuchungen mit der elektrofokussierenden Elektrophorese, die an Untersuchungen von Smith et al. (73) und Miyai et al. (74) anknüpften. Sie konnten nämlich nachweisen, daß IgG-Moleküle mit verschieden starker Beweglichkeit LATS-Aktivität besitzen. Smith et al. (73), der LATS-haltiges Serum über DEAE-Sephadex fraktionierte, berichtete über 2 aktive Fraktionen, eine schnell und eine langsam wandernde. Miyai et al. (74), die LATS-aktives IgG auf einer CMC-Säule in einem Puffergradienten fraktionierten, fanden ebenfalls, daß die LATS-Aktivität auf IgG-Moleküle mit unterschiedlicher Beweglichkeit verteilt waren, nur wiesen alle aktiven Fraktionen in der Immunelektrophorese eine cathodal gerichtete Position auf, elektrophoretisch schnelles LATS konnten sie nicht finden. Smith et al. (73) argumentieren, daß Miyai und Mitarbeiter durch ihr Konzentrationsverfahren die schnellwandernden aktiven Fraktionen mit den präzipitierten Euglobulinen bei der Dialyse des Serums gegen einen Elutionspuffer mit zu niedriger Ionenkonzentration verloren hätten. Nach seinen Ausführungen nämlich, bliebe der Aktivitätsnachweis auf die langsame Fraktion beschränkt, wenn die Euglobuline vor der Chromatographie aus dem Serum entfernt würden.

Bei unseren Untersuchungen konnte bei der Herstellung des Ausgangsmaterials ein Aktivitätsverlust durch Verwendung eines geeigneten Puffers vermieden werden. Die Auftrennung ergab, daß LATS in mehreren Fraktionen mit isoelektrischen Punkten über 8,0 vorkommt. In den entsprechenden Immunelektrophoresen wanderten die LATS-aktiven Moleküle in Richtung Kathode. Dieses Ergebnis würde mit dem von Miyai et al. übereinstimmen.

Gegen die Argumentation von Smith et al. ließe sich anführen, daß wir die Euglobuline während des Konzentrationsverfahrens in Lösung behielten, doch da wir nur 3 Fälle untersuchten, kann die Möglichkeit, daß elektrisch schnelles LATS bei anderen Patienten vorkommen kann, nicht ausgeschlossen werden. Übereinstimmend kann jedoch gesagt werden, daß die nachgewiesene verschieden starke Beweglichkeit von LATS-aktiven IgG-Molekülen die Theorie unterstützt, daß LATS ein Antikörper polyclonaler Herkunft ist.

Wie spätere Untersuchungen von Adlkofer et al. (93) ergaben, verhalten sich auch mikrosomale Antikörper bei der Auftrennung mittels elektrofokussierender Elektrophorese ähnlich wie LATS-IgG-Moleküle. Hinweise für die Heterogenität spezifischer Immunglobuline geben auch Untersuchungen von Kriss et al. (21). Die Autoren berichten, daß LATS teilweise durch Anti-Seren gegen Kappa-Ketten und teilweise durch Antiseren gegen Lamda-Ketten inaktiviert wird.

Basedow und zellständige Immunität

Neben der pathogenetischen Rolle von humoralen Antikörpern wird in neuerer Zeit eine zellständige Immunität in Analogie zur Hashimoto-Thyreoiditis bei der Entstehung des Morbus Basedow diskutiert (75). Volpé stellte folgende Theorie über die Ätiologie der Hyperthyreose auf (75):

Durch Spontanmutation kommt es zur Bindung von "forbidden clones", die, unter normalen Bedingungen laufend eliminiert, bei einem genetischen Defekt aber proliferieren. T-Lymphozyten wandern dann in die Schilddrüse ein und stimulieren direkt die Schilddrüsenhormonsekretion. Möglicherweise stimulieren sie auch nach erfolgten Kontakten mit dem Antigen B-Lymphozyten zur

Bildung humoraler Antikörper. Für die Theorie einer zellständigen Immunität gibt es zahlreiche indirekte Hinweise:

1. Morbus Basedow-Lymphozyten stimulieren die Jod-Aufnahme durch Schilddrüsenzellen ohne daß es zur Freisetzung von LATS in das Inkubationsmedium kommt (76).
2. T-Lymphozyten von Morbus Basedow- und Hashimoto-Thyreoiditis-Patienten zeigten eine MIF-Aktivität nach Inkubation mit Schilddrüsenextrakten (77). Die MIF-Aktivität zeigte keine Korrelation zum LATS-Titer oder zu üblichen Schilddrüsenantikörpern (78).

(MIF ist ein Glykoprotein, das von der Zelle synthetisiert wird).

Dagegen kann eingewandt werden, daß die Ergebnisse über eine zellständige Immunität aufgrund einer gleichzeitig bestehenden Immunthyreoiditis beim Morbus Basedow zustande gekommen sein könnte (79). Volpé konnte jedoch auch dann eine MIF-Aktivität nachweisen, wenn Lymphozyten von Morbus Basedow-Patienten mit hochgereinigten Zellmembranen inkubiert wurden.

4. LATS und endokrine Ophthalmopathie

Die auffallende Beziehung zwischen LATS-Aktivität im Serum und endokriner Ophthalmopathie führte zu der Theorie, daß LATS auch für die Pathogenese dieses Krankheitsbildes verantwortlich sei (42, 55). Catz/Bauer berichten, daß es nach völliger Entfernung/Ausschaltung der Schilddrüse zum Verschwinden von LATS und zur Besserung der Augensymptome kam (80).

Depisch et al. (81) sahen unter der Behandlung von immunsuppressiven Substanzen gleichzeitig einen Rückgang der LATS-Aktivität und der klinischen Erscheinungen. Nach anderen mitgeteilten Ergebnissen muß eine feste Beziehung zwischen LATS-Aktivität und endokriner Ophthalmopathie bezweifelt werden.

Pequegnat et al. (82) fanden bei 4 von 6 Patienten mit hohem LATS-Titer nach Radioelimination der Schilddrüse eine Verschlechterung des klinischen Befundes, obgleich LATS nicht mehr nachweisbar war. Hetzel et al. (83) konnten nach immunsuppressiven Medikamenten nur einen Abfall von LATS nachweisen, während eine Besserung der Ophthalmopathie nicht festzustellen war. Im Einzelfall scheint der Nachweis von LATS unabhängig

davon zu sein, ob während der Behandlung der Hyperthyreose eine Ophthalmopathie neu auftritt, bestehen bleibt oder sich zurückbildet (59,82,84).

Wenn LATS bei der endokrinen Ophthalmopathie eine kausale Rolle spielt, muß ein direkter Zusammenhang zwischen der Schilddrüsenfunktionsstörung und den Augensymptomen beim Morbus Basedow bestehen. Hinweis hierfür könnte die Beobachtung sein, daß auch bei der euthyreoten endokrinen Ophthalmopathie der Trijod-Thyroninspiegel im Serum erhöht und infolgedessen der Thyreotropin-Releasing-Test negativ war (85).

Es gibt aber auch Berichte über endokrine Ophthalmopathie bei völlig normalem Jodstoffwechsel (93).

Beachtung für die Diskussion um die Pathogenese der endokrinen Ophthalmopathie finden in neuerer Zeit Hinweise auf autoimmunologische Vorgänge, die eine eigenständige Erkrankung auslösen (86,87,88,89). Bei dieser Vorstellung wäre das häufige gemeinsame Auftreten von Ophthalmopathie und Hyperthyreose genauso erklärlich, wie auch die Beziehungen zwischen Hyperthyreose einerseits und Hashimoto-Thyreoiditis, Myastenia gravis, perniziöser Anämie und Vitiligo andererseits aufgrund autoimmunologischer Entstehungsursachen anerkannt oder diskutiert werden (60,90,91).

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Pathogenese beim Morbus Basedow ist nicht geklärt. Zahlreiche Hinweise deuten jedoch darauf hin, daß es eine genetisch determinierte Autoimmunkrankheit ist. Möglicherweise wird die Hyperthyreose durch humorale Antikörper ausgelöst, deren primärer Angriffspunkt - wie der des TSH- das in der Zellmembran lokalisierte Adenylzyklase cAMP-System ist. Die geringe Nachweisrate vom long acting thyroid stimulator und ein positiver Suppressionstest bei Patienten mit LATS-Aktivität im Serum nach langfristiger thyreostatischer Behandlung sind jedoch Argumente gegen die pathogenetische Rolle von humoralen Antikörpern beim Morbus Basedow.

In dieser Arbeit gelang der LATS-Nachweis nur in 25 % der Fälle von 64 untersuchten unbehandelten Morbus Basedow-Patienten. Strenge Kriterien bei der Auswertung der Versuchsergebnisse und der unempfindliche McKenzie-Versuch sind nicht allein die Ursache für den fehlenden LATS-Nachweis. Vielmehr können die im Radio-Liganden-Rezeptor-Versuch nachgewiesenen unterschiedlichen thyreotropen Immunglobuline als Erklärung - auch für den positiven Suppressionstest - angeführt werden, da bei diesem Versuch Antikörper mit verschieden starker Affinität zur menschlichen und Mause-Schilddrüsenzellmembran gefunden wurden. Außerdem gibt es Human-Thyroid-Stimulation-Immunglobulins (HTSI), die sich wohl an die Rezeptoren der Schilddrüsenzellmembran binden ohne daß Adenylzyklasesystem zu stimulieren.

Unsere Untersuchungen mit der elektrofokussierenden Elektrophorese unterstützen die Theorie, daß es sich bei den spezifischen Immunglobulinen um heterogene Antikörper handelt. Eine Isolierung LATS-aktiver Immunglobulin-Moleküle konnte mit dieser Methode nicht erreicht werden.

Neben humoralen Antikörpern wird in neuerer Zeit eine zellständige Immunität bei der Pathogenese des Morbus Basedow diskutiert. Für die Hypothese, daß die Schilddrüse durch einge-

gewanderte T-Lymphozyten als Träger der zellständigen Immunität stimuliert wird, gibt es vorwiegend indirekte Hinweise, so der Nachweis einer MIF-Aktivität in den Lymphozytenkulturen von Morbus Basedow-Patienten nach Inkubation mit Schilddrüsenextrakten.

Die Beziehung zwischen nachgewiesener LATS-Aktivität bei Hyperthyreose und gleichzeitig bestehender Ophthalmopathie ist zwar auffallend, die Befunde über einen direkten Zusammenhang der Pathogenese beider Krankheitsbilder jedoch widersprüchlich. Neuere Ergebnisse sprechen dafür, daß auch die endokrine Ophthalmopathie durch genetisch-bedingte autoimmunologische Vorgänge verursacht wird.

LITERATUR

1. HAMILTON, C.R., L.C.ADAMS, J. WALDOFF: Hyperthyroidism due to thyrotropin producing Pituitary chromophobe Adenoma.
New Engl.J.Med. 283(1970)1077
2. UTIGER, R.D.: Radioimmunoassay of Human Plasma Thyrotropin.
J.clin.Invest 44(1965)1277-1286
3. ADLKOFER, F., K.PAATSCH, H. MEINHOLD, K.W.WENZEL, H. SCHLEUSENER: Vth Meeting of the European Thyroid Association.
Jerusalem 1973, Abschr.Nr.19
4. KUMAHARA, Y., H.IWATSUBO, K. MIYAY, T.MASUI, I. FUKUCHI, H. ABE: Abnormal Thyrotropic Substance the Pituitaries of Patients with Graves'Disease.
J.clin.Endocr.27(1967)333-340
5. SPILL, A.A., C.E.SMITH: Method for Increasing the Accuracy of the Radioiodine Uptake as a Test for Thyroid Function by the Use of Desiccated Thyroid.
J.clin.Endocr.14(1954)1374-1384
6. ADAMS, D.D. and H.D. PURVES: Abnormal responses in the assay of thyreotrophin.
Proc.Univ.Otago med.Sch. 34(1956)11-12
7. KRISS, J.P., V.PRESHAKOV and J.R. CHIEN: Isolation and Identification of the Long-Acting-Thyroid-Stimulator and Its Relation to Hyperthyroidism and Circumscribed Pretibial Myxedema.
J.clin.Endocr.24(1964)1005-1028
8. ADAMS, D.D., H.D.PURVES and A.L. JENNETT: The Response of Hypophysectomized Mice to Injections of Human Serum Containing Ling-Acting Thyroid Stimulator.
Endocrinology, 68(1961)154-155
9. FRANK, H.A., F.C.LAFELLE and R. MAILLOT: Bovine Thyrotropin: Molecular Weight of the Hormone Derived from Soluble and Granular Pituitary Fractions, and Preparation of an Active Fragment by Enzyme Hydrolysis.
Endocrinology 84(1969)1257-1261

10. McKENZIE, J.M. and J. FISHMAN: Effects of Antiserum in Bioassay of Thyrotropin and Thyroid Activator of Hyperthyroidism. Proc.Soc.exp.Biol.105(1960)126-128
11. McKENZIE, J.M.: Studies on the Thyroid Activator of Hyperthyroidism. J.clin.Endocr.21(1961)635-646
12. DAVOREN, P.R. und E.W. SUTHERLAND: The Cellular Location of Adenyl Cyclase in the Pigeon Erythrocyte. J.biol.Chem.238(1963)3016-3022
13. KENDALL-TAYLOR, P.: Effects of Long-acting Thyroid Stimulator (LATS) and LATS Protector on Human Thyroid Adenyl Cyclase Activity. Brit.med.J. 1973/III 72
14. BUCHANA, W.W., W.D. ALEXANDER, J. CROOKS, D.A. KOUTRAS, E.J. WAYNE, J.R.ANDERSON, R.B. GOUDIE: Association of Thyrotoxicosis and Autoimmune Thyroiditis. Brit.med.J. 1(1961)843-847)
15. GUNN, A., W.MICHIE und W.J.IRVINE: The Thymus in Thyroid Disease Lancet 2 (1964)776-777
16. EVANS, A.W.H., J.C.WOODROW, C.D.M. McDOUGALL, A.R.CHEW, R.W.EVANS: Antibodies in the Families of Thyrotoxic Patients. Lancet I 7491(1967)636-641
17. WERNER, S.C., O.WEGELIUS, J.A.FIERER, K.C.HSU: Immunoglobulins (E,M,G) and complement in the connective tissues of the thyroid in the Graves Disease. New Engl.J.Med.287(1972)421
18. SCHLEUSENER, H. und K. SCHIMMELPFENNIG: Die Bestimmung des Long-Acting-thyroid-Stimulator nach säulen-chromatographischer Serumfraktionierung. In: Die Pathogenese des Diabetes mellitus. 12.Symp.d.Dt.Ges.f.Endokrinologie Springer Verlag 1967, 347-350
19. WITEBSKY, E., N.R.ROSE, K.TERPLAN, J.R.PAINE und R.W.EGAN: Chronic Thyroiditis and Auto-immunization. J.Amer.med.Ass.164(1967)1439-1447

20. MIYAI, K., M. FUKUCHI,
Y. KUMAHARA und H.ABE:
LATS Production by Lymphocyte
Culture in Patients with Graves'
Disease.
J.clin.Endocr.27, 855-860 (1967)
21. KRISS, J.P.:
Inactivation of Long-Acting
Thyroid Stimulator (LATS) by Ant
kappa and Anti-lambda Antisera.
J.clin.Endocr. 28, 1440-1444(1968)
22. ADLKOFER, F..
H.SCHLEUSENER, L.UHER,
A.ANANOS:
Heterogeneity of Long-acting
thyroid stimulating Activity,
Thyreoglobulin antibodies and
thyroid microsomal antibodies.
Acta endocr.73(1973)483
23. DORRINGTON, K.J.,
L. CARNEIRO, D.S. MUNRO:
Chemical Studies on the Long-
acting Thyroid Stimulator.
In: Cassano und Andreoli, Current
Topics in Thyroid Research,
Academic Press New York 1965,
Seite 455-463
24. BERUMEN, F.O., I.L.
LOBSENZ und R.D. UTIGER:
Neutralization of the Long-acting
Thyroid Stimulator by Thyroid
Subcellular Fractions.
J.Lab.clin.Med. 70, 640-649(1967)
25. SCHLEUSENER, H., P.V.N.
MURTHY, T.M.McKENZIE:
Metabolism 20(1971)299
26. BENHAMOU-GLYNN, N.,
D.J. ELKABIR, D. DONIACH,
I.M. ROITT:
Inhibition of the Thyroid-Stimu-
lating Globulin (LATS) by
Particulate and Soluble Cell
Fractions.
Proc.roy Soc.Med. 61, 1303-1305
(1968)
27. BEALL, G.N. und
D.H. SOLOMON:
Proteolytic Activity and Inhibi-
tion of the Long-acting Stimulator
of Graves'Disease by Thyroid
Extracts.
Biochim.Biophys.Acta 148,
495-500 (1967)
28. CATZ, B. und S.L. PERSIK:
Subtotal vs. Surgical Ablation
of the Thyroid, Malignant Exoph-
thalmos, and its Relation to
Remnant Thyroid. Current Topics
in Thyroid Research.
Herausgeber C. Cassano und M.
Andreoli, New York Academic Press
1965, S. 1183-1199

29. BEALL, G.N. und
D.H. SOLOMON:
Thyroid-Stimulating Activity
in the Serum of Rabbits Immunized
with Thyroid Microsomes.
J.clin.Endocr. 28, 503-510 (1968)
30. BEALL, G.N. und
D.H. SOLOMON:
Thyroid Stimulating Factor in the
Serum of Immunized Rabbits.
Proc.roy Soc.Med. 61, 1302-1303
(1968)
31. ARNAUD, C.D., H.A.
KNEUBUHLER, V.L. SEILING,
B.K.WIGHTMAN und
N.H. ENGBRING:
Responses of the Normal Human to
Infusions of Plasma from Patients
with Graves'Disease.
J.clin.Invest. 44, 1287-1294(1965)
32. CARNEIRO, L., K.J.
DORRINGTON, D.S. MUNRO:
Recovery of the long-acting
thyroid Stimulator from Serum of
Patients with thyrotoxicosis by
concentration of immunoglobulin G
Clin.Sci. 31, 215-221 (1966)
33. SVENSSON, H.:
Isoelectric Fractionation, Analy-
sis, and Characterization of
Ampholytes in Natural pH Gradients
1) The Differential equation of
Solute Concentrations at a Steady
State and its Solution for Simple
34. VESTERBERG, O.:
Isoelectric Fractionation, Analy-
sis, and Characterization of
Ampholytes in Natural pH Gradients.
5) Separation of Myoglobins and
Studies on their Electro-Chemical
Differences.
Acta chem.scand. 21, 206-216(1967)
35. McKENZIE, J.M. und
A. WILLIAMSON:
Experience with the Bio-Assay of
the Long-acting Thyroid Stimulator.
J.clin.Endocr. 26, 206-216 (1967)
36. SCHEIDEGGER, J.J.:
Une micro-méthode de l'immuno-
électrophorèse.
Int.Arch.Allergy 7, 103-110(1955)
37. LOWRY, O.H., N.J.
ROSENBROUGH, A.L.FARR
und R.J. RANDALL:
Protein Measurement with the
Folin Phenol Reagent
J.biol.Chem. 193, 265-275 (1951)
38. SAKIZ, E. und
R. GUILLEMIN:
On a Methode for Calculation and
Analysis of Results in the McKenzie
Assay for Thyrotropin (TSH).
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 115,
856-860 (1964)

39. BROWN, J.J.:
ed. BMD Biomedical Computer Programs Health Sciences Computing Facility University of California Los Angeles (1964)
40. BURKE, G.:
Failure of Immunologic Reaction of Long-acting Thyroid Stimulator (LATS) to Thyroid Components, and the Demonstration of a Plasma Inhibitor of LATS.
J.Lab.clin.med. 69, 713-727 (1967)
41. LAMBERG, B.-A., A. GORDIN, L. WEITZMAN and A. WEITZ:
Long-acting Thyroid Stimulator (LATS) in Toxic Nodular Goitre, Toxic Adenoma and Graves' Disease.
Acta Endocr. 62, 199-209 (1969)
42. BIRD, G.P., V. PLESCHAKOV, M.L. PLESCHAKOV, G. SHARP, G. SHARP, G. SHARP:
Studies on the Pathogenesis of the Ophthalmopathy of Graves' Disease.
J.clin.Endocr. 27, 582-593 (1967)
43. BIRD, G.P., V. PLESCHAKOV, M.L. PLESCHAKOV, G. SHARP:
Therapy with Occlusive Dressings of Pretibial Myxedema with Fluocinolone Acetonide.
J.clin.Endocr. 27, 595-604 (1967)
44. BIRNBAUM, J., A. DEBROUZE, R. KIRKIN, R. GALAY and P.A. DAVENET:
Evaluation of the Relationship Between Long-acting Thyroid Stimulator, Clinical and Biological Thyrotoxicosis and Exophthalmos.
Acta endocr. 58, 581-592 (1968)
45. BURKE, G.:
Humoral Factor in the Pathogenesis of Graves' Disease.
Physiol.Rev. 48, 252-310 (1963)
46. BROWN, J.J., A. WHITFORD and G. BURKE:
Maternal and Neonatal Graves' Disease.
J.Am.med.Ass. 200, 250-252 (1967)
47. MASER, P.M. and P.C. KURO:
Thyroid Stimulating Activity in Human Sera.
J.Endocr. 20, 19-20 (1960)
48. SCHMIDT, J.:
Experimental Production of a Thyroid-stimulating Antithyroid Antibody.
J.clin.Endocr. 28, 596-602 (1968)
49. PINSKY, A., M. PINSKY and J.E. STANLEY:
Thyrotropin and Long-Acting Thyroid Stimulator Assays in Thyroid Disease.
J.clin.Endocr. 25, 199-208 (1965)

50. SCOTT, T.W., B.F. GOOD
und K.A. FERGUSON: Comparative Effects of Long-Acting Thyroid Stimulator and Pituitary Thyrotropin on the Intermediate Metabolism of Thyroid Tissue in Vitro. Endocrinology 79, 949-954 (1966)
51. WALL, J.R., B.F. GOOD,
B.S. HETZEL: Long-acting thyroid stimulator in euthyroid relatives of thyrotoxic patients. Lancet 1969/II 1024
52. DER KINDEREN, P.J.: EPS, LATS and Exophthalmos. In: Thyrotoxicosis, Herausgeber W.J. Irvine, Livingstone-Edinburgh, London 1967, Seite 221-237
53. McKENZIE, J.M.: An Evaluation of the Thyroid Activator of Hyperthyroidism. In: Advances in Thyroid Research, herausgegeben von R. Pitt-Rivers, Oxford: Pergamon Press 1961, S. 210-214
54. McKENZIE, J.M.: Hyperthyroidism Caused by Thyroid Adenomata. J.Endocr. 26, 779-781 (1966)
55. NOGUCHI, A., H. KURIHARA
und S. SATO: Clinical Studies on the Long-Acting Thyroid Stimulator J.clin.Endocr. 24, 160-165 (1964)
56. ZIEMKE, A., L. WEIS-
BECKER, H. UTHGENANNT,
K. SCHEMMELE, W. MÜLLER,
H. HEESEN und W.
EICKENBUSCH: Der long-acting thyroid stimulator (LATS) bei unbehandelten und ¹³¹IJ-therapierten Hyperthyreosen, nach totaler Thyreoidektomie, sowie seine Beziehung zu den Schilddrüsenantikörpern. Klin. Wschr. 46, 1025-1027 (1963)
57. PIMSTONE, B.L.,
R. HOFFENBERG und
E.BLACK: Parallel Assays of Thyrotrophin, Long-Acting Thyroid Stimulator and Exophthalmos-Producing Substance in Some Endocrine Disorders. J.clin.Endocr. 23, 336-345 (1963)
58. PIMSTONE, B.L.,
R. HOFFENBERG und
E.BLACK: Parallel Assays of Thyrotrophin, Long-Acting Thyroid Stimulator and Exophthalmos-Producing Substance in Endocrine Exophthalmos and Pretibial Myxedema. J.clin.Endocr. 24, 976-982 (1964)
59. HORSTER, F.A.,
H. SCHLEUSENER und
K. SCHIMMELPFENNIG: Neue Befunde zur Pathogenese der Basedow'schen Krankheit. Dtsch.Med.Wschr. 92, 661-666(1967)

50. CARNEIRO, L., K.J.
DORRINGTON, D.S. MUNRO: Relation Between Long-Acting
Thyroid Stimulator and Thyroid
Function in Thyrotoxicosis.
Lancet 2, 878-881 (1966)
51. BENOIT, F.L.,
F.S. GREENSPAN: Corticoid Therapie for Pretibial
Myxedema. Observations on the
Long-acting Thyroid Stimulator.
Ann.intern Med. 66, 711-720 (1966)
52. DORRINGTON, K.J. und
D.S. MUNRO: The Long-acting Thyroid Stimulator
Clin.Pharmacol.Ther. 7, 788-806
(1966)
53. ADAMS, D.D. und T.H.
KENNEDY: Occurrence in Thyrotoxicosis of a
Gamma Globulin Which Protects
LATS from Neutralization by an
Extract of Thyroid Gland.
J.clin.Endocr. 27, 173-177 (1967)
54. ADAMS, D.D., T.H. KENNEDY: Evidence to suggest that LATS-
Protector stimulates the human
Thyroid gland.
J.clin.endocr. 33 (1971) 47
55. ADAMS, D.D., T.H. KENNEDY,
M.D.H. STEWART: Correlation between long-acting-
thyroid-stimulator, Protector
level and Thyroid ¹³¹I uptake
in Thyrotoxicosis.
Brit.Med.J. 2, (1974) 199
56. KENDALL-TAYLOR, P.,
S.M. DIRMIKIS,
D.S. MUNRO: Proc.roy. Soc.Med. 68 (1975) 252
57. MEHDI, S.S., S.S. NUSSEY: A Radio-Ligand Receptor assay for
the long-acting thyroid stimulator
inhibition by the long-acting
thyroid stimulator for the binding
of radio-iodinated thyroid-stimu-
lating hormone to human thyroid
membranes.
Biochem.J. 145 (1975) 105
58. SCHLEUSENER, H., P.
KOTULLA, J. KRUCK,
G. KRUCK, D. GEISSLER,
F. ADLKOER: Thyroid-Research-1975(Proceeding
of the 7.th International Thyroid
Conference, Boston 1975) ed.by
J. Robbins.
Excerpta Medica Publisher,
Amsterdam, in press
59. MUMTHAP, E.D., B.R. SMITH,
G.A. Pyle, R. HALL,
P. VELICE: Relation of thyroid-stimulating
immunoglobulins to thyroid
function and effects of surgery,
radioiodine and antithyroid drugs.
Lancet No 7909 (1975) 713

70. CHEPRA, J.J., D.H.
SOLOMON, D.E. JOHNSON,
U. CHOPRA, D.A. FISHER:
Dissociation of Serum LATS content
and thyroid Suppressibility
during treatment of hyper-
thyroidism.
71. SILVERSTEIN, G.E.,
G. BURKE:
Thyroid Suppressibility and long-
acting thyroid stimulator in
Thyrotoxicosis.
Arch.intern.Med. 126 (1970) 615
72. SCHLEUSENER, H., P.
KOTULLA, F. ADLKOEFER,
S. NUSSEY, Q. MEHDI:
VI Annual Meeting European
Thyroid Association, Prag 1974.
Endocrinologia experimentalis 8
(1974) 226
73. SMITH, B.R., D.S. MUNRO
und K.J. DORRINGTON:
The Distribution of the Long-
Acting Thyroid Stimulator among
-G-Immunglobulins.
Biochim.Biophys.Acta 188, 89-100
(1969)
74. MIYAI, K., S.C. WERNER:
Concentration of Long-Acting
Thyroid Stimulator (LATS) by Sub-
fractionation of yG Globulin from
Graves'Disease Serum.
J.clin.Endocr. 26, 504-512 (1966)
75. VOLPE, R. M. EDMONDS,
L. LAMKI, P.V. CLARKE,
V.V. ROW:
Mayo clin Proc. 47 (1972) 824
76. EDMONDS, M.W., V.V. ROW,
R. VOLPE:
Action of Globulin and Lymphocytes
from peripheral blood of Patients
with Graves'Disease on isolated
bovine thyroid cells.
J.clin.Endocr. 31 (1970) 480
77. VOLPE, R., N.R. FARID,
C.V. WESTARP, V.V.ROW:
The Pathogenesis of Graves'Disease
and Hashimoto'Thyroiditis.
Clin.Endocr. 3 (1974) 239
78. LAMKI, L., V.V. ROW,
R. VOLPE:
Cell-mediated Immunity in Graves'
Disease and in Hashimotos'
Thyroiditis as shown by the demon-
stration of Migration Inhibition
Factor (MIF).
J.clin.Endocr. 36 (1973) 353
79. FIALKOW, J.P.:
Prog. med.Genet. 6 (1969) 117
80. BAUER, F.K. und B. CATZ:
Radioactive Iodine Therapie for
Progressive Malignant Exophthalgo .
Acta Endocr. 51, 15-22 (1966)

1. DEPICCH, J. E. HÖFER
und A. SCHATZ: Der Einfluß von immunsuppressiver
Therapie auf den Long-Acting
Thyroid Stimulator (LATS) und das
klinische Bild bei Patienten mit
lokalisiertem Myxödem und
Exophthalmus.
Wien.klin.Wschr. 81, 8-10 (1969)
2. FENNEGAT, E.P., W.E.
TAYLOR, A.L. McCOMNEY
und E.P. WYSE: Large Doses of Radioiodine in
Graves'Disease: Effect on Ophthal-
mopathy and Long-acting Thyroid
Stimulator.
Mayo Clin.Proc. 42, 802-811 (1967)
3. HETTEL, S.L., C.A. MASON,
H.M. VAID: Studies of Serum Long-acting
Thyroid Stimulator (LATS) in Rela-
tion to Exophthalmos after
Therapie for Thyrotoxicosis.
Aust.Ann.MED. 17, 307-311 (1968)
4. ISHIGURO, J.I. und
E.P. McULLAGH: Observations Against a Causal
Relationship Between the Long-
Acting Thyroid Stimulator and
Ophthalmopathy in Graves'Disease.
J.clin.Endocr. 28, 1177-1182 (1968)
5. KERN, R.O., A.V.Z. WÜHLEN
FÜHRLE, O. EIRICH: Hypertrijodothyroninemia.
Acta endocr.Suppl. (1973) 173
6. MALLUM, D., G. ABBE-
RAHNEN, L.A. LAMBERG: Retrobulbar connective tissue
changes in malignant Exophthalmos.
Acta Endocr. 25, 452-456 (1957)
7. ABBE-RAHNEN, G.,
K. IVERSEN und R. WICHMAN: Malignant Exophthalmos: Muscular
Changes And Thyrotrophin Content
In Serum.
Acta Endocr. 11, 376-399 (1952)
8. MCALLENZIE, J.L.: Zur Pathogenese der Hyperthyreose.
Triangel 9, 2-8 (1969)
9. HALL, P., K. KIRKHAM,
D. DONIACH und D. ELKABIR: Ophthalmic Graves'Disease
Diagnosis and Pathogenesis.
Lancet 1, 375-378 (1970)
10. ISHII, Y., L.J. DeGROOT: Vitiligo in Graves'Disease.
Ann.intern.Med. 71, 935-940 (1969)
11. SAXENA, K.L.: Inheritance of Thyroglobulin
Antibody in Thyrotoxic Children.
Lancet 1, 583 (1965)

92. SCHLEZINGER, N.S. und
M.S. CORIN: Myasthenia Gravis associated
with Hyperthyroidism in Childhood.
Neurology 18, 1217-122 (1968)
93. HALL, R., KIRKHAM, K.,
DOMIACH, D., ELKABIR, D.: Ophthalmic Graves' Disease
Diagnosis and Pathogenesis.
The Lancet 1970 I 375

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr.H.Schleusener für die Themenstellung und die freundliche ausdauernde Unterstützung danken. Ebenso danke ich Herrn Priv.Doiz.Dr.F.Adlkofer für seine Ratschläge und hilfsbereiten Hinweise.

Lebenslauf

=====

Name: Sibylle Kasper-Czygan, geb. am 11.10.1941
in Sorgenau/Ostpr., verheiratet, 2 Kinder

Vater: Dr. Heinz Czygan, geb. am 27.4.1908 in
Sorgenau/Ostpr., Arzt

Mutter: Hilde Czygan, geb. am 6.8.1908 in Germau/Ostpr.

Geschw.: drei

Schulausbildung

1947 - 1953 Grundschule in Berlin
1953 - 1960 Naturwissenschaftliches Gymnasium
Robert Koch in Berlin

Studienverlauf

Mai 1960 Immatrikulation an der FU Berlin
(Medizinische Fakultät)

April 1961 Vorphysikum an der FU Berlin

Mai 1963 Physikum an der FU Berlin

Sept. 1966 Staatsexamen an der FU Berlin

Medizininalassistentenzeit

1.11.1966 - 30. 4.1967 Städt.Krankenhaus am Kreuzberg
(Innere Abteilung)

1. 6.1967 - 31.10.1967 Allgemeines Krankenhaus Celle
(Chirurgische Abteilung)

1. 1.1968 - 30. 4.1968 Städt. Frauenklinik Berlin-Neukölln
(Gynäkologie)

1. 5.1968 - 31. 5.1968 Gesundheitsamt Kreuzberg von Berlin

1. 6.1968 - 31.10.1968 Kinderabteilung der Klinik Heckeshorn

1. 2.1969 - 30. 4.1969 Arztpraxis
2. 5.1969 Approbation

Ärztliche Tätigkeit

Nach der Approbation mehrfach Praxis-
vertretungen und Notfalldienste

1.11.1969 - Sept. 1970 Forschungslabor der II. Med. Poliklinik
(Klinikum Steglitz)
Experimentelle Untersuchungen für meine
Dissertation.

Okt. 1970 - Sept. 1971 Gelegentlich Praxisvertretungen und
Notfalldienste

1.10.1971 - 31.12.1973 Ass.Ärztin im Städt.Krankenhaus Am Urban
in Berlin (Innere Abteilung)

Nach der Geburt meines zweiten Kindes
vorübergehende Unterbrechung meiner
ärztlichen Tätigkeit.

10.4.1975 - 30. 6.1976 Ass.Ärztin im Städt.Krankenhaus Am Urban
in Berlin (Innere Abteilung)

